



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



آموزش نرم افزار Genex

- دکتر سیده زهرا مطلوبی
- دکتری ایمنی شناسی
- استادیار دانشکده پزشکی
- دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

مقدمه: نکات مهم در آنالیز داده های حاصل از Real Time PCR

➤ میزان Ct ژن رفرنس : $Ct < 25$

➤ حداقل اختلاف بین Ct نمونه های آزمایش با Ct کنترل منفی 3 است.

➤ Ct بالاتر از ۳۸ برای نمونه ها

I. نبود ژن مورد نظر در نمونه

II. پایین بودن کیفیت سنتز cDNA : مشکل آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، کم بودن میزان RNA اولیه

III. بهینه نبودن شرایط انجام تست ریل تایم : مناسب نبودن دما، آنزیم، پرایمر و یا پایین بودن غلظت مواد

مقدمه: نکات مهم در آنالیز داده های حاصل از Real Time PCR

➡ فرمول ها:

$$\Delta Ct = Ct \text{ (ژن هدف)} - Ct \text{ (ژن رفرنس)}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ (نمونه کنترل)} - \Delta Ct \text{ (نمونه بیمار شده)}$$

$$\text{Fold change} = 2^{-\Delta\Delta Ct} = \frac{2^{-(\Delta Ct \text{ Sample})}}{2^{-(\Delta Ct \text{ control})}}$$

اگر کیفیت پرایمر ۱۰۰٪ باشد $2 =$

$E = 1 +$ (کارایی پرایمر)

مقدمه: نکات مهم در آنالیز داده های حاصل از Real Time PCR

بررسی کیفیت داده های ریل تایم

I. اختلاف Ct دو نمونه نباید بیش از ۱ باشد.

II. منحنی های ذوب بر هم منطبق بوده و دارای یک قله باشند

III. بررسی کیفیت پرایمر ها و تعیین Cq

✓ با استفاده از روش ترسیم منحنی استاندارد

✓ با استفاده از نرم افزار LinReg



نرم افزار Genex

دارای ۴ مرحله:

۱- آماده سازی و مرتب کردن داده های ریل تایم برای ورود به نرم افزار

۲- بررسی کیفیت داده ها

۳- پردازش اولیه داده ها و آماده سازی برای محاسبه **fold change**

۴- آنالیزهای آماری

باستخر از قبه شما

